毕赤酵母核糖体蛋白对蛋白质过量表达的调控

廖锡豪　林 影

蛋白质过量表达的调控研究中，关于基因转录、蛋白质修饰、折叠和分泌途径的分子机理研究及其在蛋白合成调控中的应用已经较为广泛。由于核糖体结构存在复杂性，关于蛋白质过量表达在核糖体翻译水平的研究及调控的报道较少。

毕赤酵母作为蛋白质表达和生产的重要工业菌株，已成为蛋白质高效表达调控研究的重要对象。在过去的研究中通过选择高效启动子提高蛋白质基因转录水平，过量表达内源 UPR 相关因子提高蛋白质折叠水平，优化分泌信号肽均能达到提高蛋白质合成与表达量的目的。前期研究在蛋白质过量表达的毕赤酵母细胞中发现了大量核糖体蛋白表达下调及细胞生长下降的现象，对核糖体蛋白及核糖体结构功能进行深入分析，有望从翻译水平上研究核糖体蛋白对细胞蛋白质过量表达的分子调控机理。

本课题使用 iTRAQ　LC-MS/MS 技术分析重组毕赤核糖体蛋白及能量代谢途径的差异表达，发现在过表达木聚糖酶过程中有 30 个核糖体蛋白出现下调。对表达下调的核糖体蛋白进行基因缺失构建毕赤酵母突变菌株，通过 Cre/loxp 筛选标记可重复利用基因敲除系统在毕赤酵母 GS115 宿主中进行核糖体蛋白突变菌株的筛选及功能研究，成功获得了 *RPL22*Δ、*RPL24*Δ、*RPL26*Δ等 28 个核糖体蛋白突变菌株。分别以增强型绿色荧光蛋白 egfp 及植酸酶 phy 作为报告蛋白，初步分析突变株的细胞生长特性与蛋白质合成效率，并测定分析了其多聚核糖体图谱，结果表明缺失核糖体蛋白对细胞生长与蛋白质过量表达有不同程度的影响，且可使细胞翻译活性大幅下降。结合翻译组学和蛋白质新生肽链折叠稳定性分析，研究结果表明非必需核糖体蛋白缺失影响核糖体对蛋白质的翻译起始速率与延伸速率,进而影响蛋白质共翻译折叠效率，从蛋白质的合成质量上调控其产量，为进一步分析核糖体蛋白对翻译、内质网胁迫耐受及蛋白合成分泌等功能的影响和深入探讨核糖体蛋白对重组毕赤酵母细胞生长及蛋白质过量表达的分子调控机制提供基础。

作者简况

廖锡豪，出生于 1991 年 6 月 19 日，华南理工大学生物科学与工程学院在读博士，biliao.xihao@mail.scut.edu.cn。